Aus der Abteilung Innere Medizin II
Ärztlicher Direktor: Professor Dr. H. D. Waller
der Medizinischen Klinik der Universität Tübingen

WIRKUNG EINES TEILWEISE GEREINIGTEN KALBSMILZEXTRAKTES (LYMPHOZYTENCHALONS) AUF DIE ÜBERLEBENSZEIT UND DIE VERGRÖSSERUNG LYMPHATISCHER ORGANE VON AKR-MÄUSEN MIT TRANSPLANTIERTER LYMPHATISCHER LEUKÄMIE

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der
MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
(Klinische Medizin)

der Eberhard-Karls-Universität
Tübingen

vorgelegt von
Heinrich Rutsch
aus Schwäbisch Hall

1979

Aus der Abteilung Innere Medizin II
Ärztlicher Direktor: Professor Dr. H. D. Waller
der Medizinischen Klinik der Universität Tübingen

WIRKUNG EINES TEILWEISE GEREINIGTEN KALBSMILZEXTRAKTES (LYMPHOZYTENCHALONS) AUF DIE ÜBERLEBENSZEIT UND DIE VERGRÖSSERUNG LYMPHATISCHER ORGANE VON AKR-MÄUSEN MIT TRANSPLANTIERTER LYMPHATISCHER LEUKÄMIE

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der
MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
(Klinische Medizin)

der Eberhard-Karls-Universität
Tübingen

vorgelegt von
Heinrich Rutsch
aus Schwäbisch Hall

1979

DANKSAGUNG

Für die Überlassung des Themas möchte ich Herrn Professor Dr. Klaus Wilm und Frau Dr. Else Heidemann danken. Besonders erwähnen möchte ich die immer gern entgegengebrachte Bereitschaft von Frau Dr. Heidemann, mich zu jeder Zeit mit ihrem Rat, aber auch mit persönlichem Einsatz bei der Durchführung der Arbeit zu unterstützen.

Herzlichen Dank möchte ich auch Fräulein Nevenka Podgornik für ihre Hilfe und die gute Zusammenarbeit im Labor sagen.

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Dekan: Professor Dr. Dr. N. Schwenzer
Berichterstatter: Prof. Dr. K. Wilms
(Prof. Dr. H. D. Waller)

Inhaltsverzeichnis

I. Einleitung

II. Methodik
1. Extraktgewinnung
2. Tiere und Tierhaltung
3. Transplantation der leukämischen Zellen
4. Behandlung der Tiere
5. Verlaufsbeobachtungen
6. Signifikanzprüfung

III. Ergebnisse
1. Überlebenszeit
2. Sektionsergebnisse
3. Gewichte
4. Beurteilung klinischer Krankheitszeichen

IV. Diskussion

V. Zusammenfassung

Verwendete Abkürzungen

p.t.	=	post transplantationem
S	=	Summe der Bewertungen
n	=	Anzahl der Tiere
Ø	=	durchschnittliche Bewertung der Gruppe
PHA	=	Phytohämagglutinin

I. EINLEITUNG

Die Organe und Gewebe eines ausgewachsenen Körpers werden auf einer konstanten Größe gehalten. Nach einer Zellschädigung und/oder einem Zellverlust setzen Regenerationsprozesse ein, die eine Zellvermehrung, Zelleinwanderung und Zelldifferenzierung beinhalten (18, 34).
Eine heute akzeptiere Hypothese geht davon aus, daß sich Zellen eines Typs durch einen speziellen Regelkreis über ihre Gesamtzahl im Körper oder einem bestimmten Körperteil und über deren Differenzierungsgrad informieren. Dieser Regelkreis besteht aus bestimmten spezifischen "Signalmolekülen", die von den Zellen produziert werden (18, 21).
Sowohl IVERSEN (18) als auch BULLOUGH und LAURENCE (6, 7) konnten 1960 diese Hypothese durch Versuche an Epidermiszellen stützen. Aus den Ergebnissen von BULLOUGH und LAURENCE konnte auf eine mitosehemmende Substanz geschlossen werden, die normalerweise in den Zellen vorhanden ist. Bei Zellschädigung bzw. Zellverlust geht auch der Mitosehemmer verloren, woraus eine erhöhte Mitoseaktivität der unbeschädigten Zellen resultiert (7, 34). BULLOUGH nannte diese gewebsspezische antimitotische Substanz "Chalon" (4). Chalone sind nach bisherigen Befunden gewebs- und zellspezifische, aber nicht art- und gattungsspezifische Regulationsstoffe des Gewebswachstums. Sie werden in den differenzierten Zellen eines Gewebes in geringsten Mengen gebildet, sezerniert und hemmen nach dem Prinzip der negativen Rückkopplung die Proliferation der generativen Zellen desselben

Gewebes reversibel (18, 23, 35). An welchem Punkt die Chalone diesen Regelkreis beeinflussen ist jedoch noch nicht bekannt. Eine Verringerung der Adenylzyklaseaktivität (1, 2) bzw. die Bildung eines Chalon - Adrenalin- Komplexes (6, 8, 9, 20, 21) wird postuliert.

Die Rolle der Chalone in der Carcinogenese und in der Behandlung von Tumoren wurde viel diskutiert. Es ist bekannt, daß Tumorzellen einerseits weniger Chalon enthalten (5, 10) und andererseits auf die Gabe von Chalonen nicht so sensibel wie normale Zellen reagieren (16). ATTALLAH meint, die Kontakthemmung, welche durch Zelltransformation aufgehoben wird, könnte durch vorübergehende Chalonbrücken zwischen benachbarten Zellen bewirkt werden. Verminderung der Chalonbrücken zwischen transformierten Zellen müßte zwangsläufig zu einer ineffektiven Kontakthemmung führen, woraus eine weitere Zellteilung resultiert (1, 22). Hier setzen die Überlegungen zur Tumorbehandlung mittels Chalonen an: eine künstlich erhöhte Blut- und Gewebskonzentration des vom Tumor produzierten Chalons müßte zu einer Mitosehemmung führen. Tatsächlich konnten sowohl an Ratten mit transplantierter Chloroleukämie (27) als auch an Patienten mit myeloischer Leukämie (28) durch das entsprechende Chalon vollständige Remissionen erzielt werden. Es ist auch denkbar, daß Chalone zusammen mit Cytostatika und Strahlentherapie eingesetzt werden können. Hier hätten sie eine Helferfunktion, indem sie den Zellzyklus ihrer entsprechenden Zellfamilie synchronisieren. Da gesunde Zellen eine höhere Affinität zu Chalonenen haben, könnten sie beim

Absinken des therapeutisch erhöhten Chalonspiegels noch arretiert werden, während die bereits wieder proliferierenden, nun synchronisierten Tumorzellen durch Cytostatika bzw. Strahlentherapie abgetötet werden könnten. Damit wäre eine gezielte Therapie mit wesentlich geringeren Nebenwirkungen möglich (18).

In unserem Labor konnte ein wässriger Extrakt aus Kalbsmilzen gewonnen werden, der in vitro eine konzentrationsabhängige reversible Hemmwirkung auf phytohämagglutinin-stimulierte humane Lymphozytenkulturen zeigte. Durch mehrere Methoden konnte eine Zytotoxizität ausgeschlossen werden, sodaß davon ausgegangen werden kann, daß es sich bei dem Extrakt um ein Lymphozytenchalon handelt (14).

Bei in-vivo-Versuchen an ca. 6 Wochen alten Mäusen vom Stamm AKR konnte WÖRZ (39) mit diesem Extrakt eine signifikante Hemmung des ^{3}H-Thymidineinbaus in den Thymus nachweisen.

Mäuse vom Stamm AKR (AKR-Mäuse) haben die Eigenschaft, im Alter von 5 bis 13 Monaten spontan maligne Lymphome mit leukämischer Verlaufsform zu entwickeln, wobei der Thymus als 1. Organ von der Krankheit befallen wird (24, 25, 33). Ätiologisches Agens für diese Lymphome ist das GROSS-Virus (13), ein RNA-Virus, das durch vertikale Übertragung weitergegeben wird. Werden Thymuszellen einer spontan erkrankten AKR-Maus auf gesunde Tiere desselben Stammes übertragen, so entwickeln die Empfängertiere innerhalb relativ kurzer Zeit generalisierte Lymphome (first-passage-AK-Lymphome) (3, 29, 32, 33). Nach Modellen von BRUCE et al. (3) und (SKIPPER et al. (31) kann von der

mittleren Überlebenszeit der Versuchstiere auf die Wirksamkeit der getesteten Substanz geschlossen werden. Die mittlere Überlebenszeit der Tiere mit "first-passage-AK-Lymphomen" ist stark von der Anzahl der übertragenen Zellen abhängig. Sie schwankt je nach transplantierter Zellzahl zwischen 20 und 37 Tagen (33).
Ziel dieser Untersuchung ist, festzustellen, ob durch wiederholte i.v.-Injektionen des membrangereinigten Kalbsmilzextraktes die Überlebenszeit von Mäusen mit "first-passage-AK-Lymphomen" verlängert werden kann. Zu diesem Zweck wurden ca. 10 Wochen alten, gesunden Mäusen $2x10^6$ Thymuszellen einer spontan an malignen Lymphomen erkrankten, syngenen Maus transplantiert. Als Kriterium für die Beeinflussung der Tumorzellmasse durch den Extrakt wurden die Gewichte verschiedener lymphatischer Gewebe und der Leber nach dem Tod der Tiere bestimmt. Um eine eventuell unterschiedliche Entwicklung der klinischen Krankheitszeichen der Tiere verschiedener Versuchsgruppen feststellen zu können, wurden während der Zeit zwischen Zelltransplantation und Tod der Tiere die Mäuse täglich beobachtet.

II. METHODIK

1. Extraktgewinnung

Der Extrakt wurde aus Kalbsmilzen nach der von HEIDEMANN et al. angegebenen Methode (14) gewonnen, welche eine Modifikation der Methode von HOUCK et al. (17) darstellt:
Die frisch gewonnenen Milzen wurden sofort unter 4°C gekühlt. Während der Aufarbeitung wurde darauf geachtet, daß die Temperatur des Organs bzw. des Extraktes nie über 6°C anstieg. Nach dem Homogenisieren der Gewebe und der Abtrennung des Bindegewebes wurde eine Acetonfällung durchgeführt. Das Sediment wurde mit Aceton nachgewaschen und in aqua bidest. aufgenommen. Durch Zentrifugieren des wässrigen Extraktes bei 22 500 g und anschließende Auftrennung des Überstandes in der Amiconfiltrationszelle wurde die Fraktion $Ü_{30}$ gewonnen. Diese Fraktion wurde über mindestens 48 Stunden gegen mehr als das 200-fache Volumen aqua dest. dialysiert. Der Extrakt, der bis zum 19. Krankheitstag injiziert wurde, wurde zwar gegen dasselbe Volumen destilliertes Wasser dialysiert, jedoch über einen kürzeren Zeitraum (ca 24 Std.). Der lyophilisierte Extrakt wurde möglichst sofort nach Beendigung des Lyophilisiervorgangs in Poyäthylen-Szintillationsröhrchen abgefüllt und luftdicht verschlossen. Bei Lagerung bei -20°C ist der Extrakt nach 6 Monaten noch gewebsspezifisch wirksam (14).
Zur Verabreichung des Extraktes wurde das Lyophilisat in physiologischer Kochsalzlösung gelöst. Die Lösungsmenge wurde so gewählt, daß sich bei dem kürzer dialysierten Extrakt eine Konzentration von 2,0mg/0,2ml physiologischer Kochsalzlösung ergab (10mg/ml), und bei dem länger dialysierten eine Konzentration von 1,0mg/0,2ml. Sofort nach der Filtration mit dem

Sterilfilter "Swinnex 13" (Porengröße: 0,22mm; Millipore GmbH Neu-Isenburg) wurde die Injektion sowohl der Extraktlösung als auch der reinen physiologischen Kochsalzlösung durchgeführt.

2. Tiere und Tierhaltung

Für die Versuche wurde der Stamm AKR/A/BOM spf verwendet, den das "Laboratory animals breeding and research Centre Gl. Bomholdgard Ltd. 8680 Ry - Denmark" lieferte. Die ausschließlich weiblichen Tiere wogen am Versandtag zwischen 20 und 22 g. Nach einer 2-wöchigen Akklimatisationszeit (36) waren die Tiere bei Versuchsbeginn ca. 10 Wochen alt.

Vor und während des Versuchs wurden die Tiere in einem Raum mit 10 m^2 Bodenfläche gehalten, in dem sich ausschließlich Mäuse befanden. Durch 3 ca. 0,5 m^2 große Klappfenster waren die Tiere dem normalen Tag-Nacht-Rhytmus angepaßt (Versuchszeitraum: September, Oktober). Die Raumtemperatur schwankte um ca. 24°C (37).

Die Tiere beider Gruppen wurden gemeinsam in 2 Makrolon^R-Käfigen des Typs III gehalten. Die etwa 900 cm^2 große Bodenfläche eines jeden Käfigs wurde zu Beginn des Versuchs von je 7 Tieren beider Gruppen belegt. Als Wasserbehälter wurden die 300 cm^3 fassenden Tränkflaschen F 30 benutzt, die ebenfalls wie die Käfige die Firma EBECO, Castrop-Rauxel, liefert. Es wurde normales Leitungswasser verabreicht. Als Futter wurde das Standardfutter Altromin 1324 (Altromin-GmbH, Lage), eine Haltungsdiät für Ratten und Mäuse, gegeben.

Vor Besetzung der Käfige wurden diese in Sagrotanlösung gereinigt und desinfiziert. Die Sägemehl- und Zellstoffeinlagen wurden bei jeder Untersuchung der Lymphknoten, bzw. nach jeder Injektion gewechselt.

Vor der Wiederbelegung wurden die Käfige mit Bactazol^{R}-Desinfiziens ausgesprüht.
Um Verfälschungen des Versuchsergebnisses durch die Veränderung der Umgebung zu vermeiden, wurde eine Akklimatisationszeit von 14 Tagen eingehalten (36).
4 Tage vor der Zelltransplantation wurden alle Mäuse gewogen und mit Pikrinsäure nach einem eigenen Punktesystem gekennzeichnet.

3. Transplantation der leukämischen Zellen
AKR-Mäuse entwickeln spontan oder durch Zellübertragung Lymphome mit leukämischer Verlaufsform (3,13,29, 33). Durch die Zelltransplantation gelingt es, die Versuche zu standardisieren, wodurch es möglich wird, den Krankheitsbeginn exakt festzulegen. Damit kann die Krankheitsdauer genau errechnet werden. Es ist auch leichter, die Versuchsbedingungen über den relativ kurzen Zeitraum gleich zu halten.
Für die Übertragung der Leukämie (Abbildung 1) wurden Thymuszellen (24,25) einer ca. 9 Monate alten syngenen AKR-Maus, die an einer spontanen Leukämie erkrankt war, verwendet. Die klinische Diagnose der Erkrankung wurde durch Tasten der oberflächlichen inguinalen Lymphknoten und der Milz, sowie Abschätzen der Thymusgröße gestellt (29,33). Als weniger wichtiger Gesichtspunkt wurde auch der Allgemeinzustand des Tieres beurteilt (19).
Vor dem Töten des Tieres mit Äther wurden sämtliche Gefäße sterilisiert. Während des gesamten Arbeitsganges wurde darauf geachtet, daß eine weitgehende Keimfreiheit gewährleistet blieb.

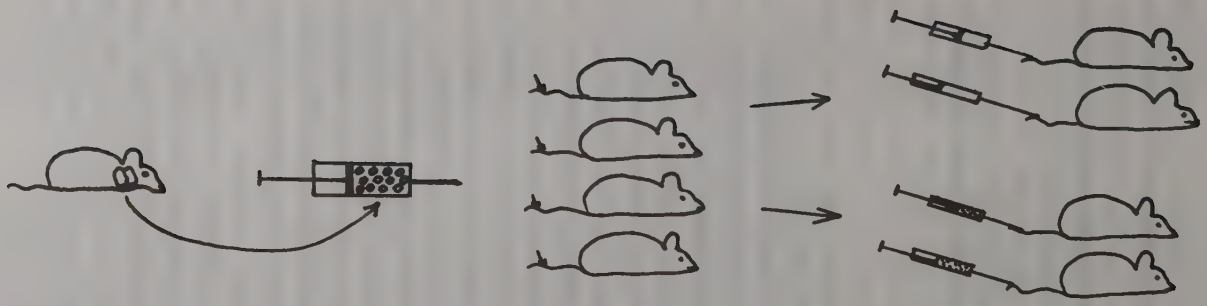

Abbildung 1: Transplantation der AK-Leukämie

Sofort nach Sistieren der Atmung wurde das Tier auf einem Styroporbrett mittels Injektionskanülen festgeheftet und mit Sagromed abgesprüht. Die Präparation wurde so durchgeführt, daß der Thymus frei zugänglich wurde. Von einer spitzen Pinzette gefaßt, wurde der Thymus mit einer feinen Schere durch einen einzigen Schlag entfernt. Auf einem engmaschigen Zellsieb wurde der frisch gewonnene Thymus fein zerschnitten. Anschließend wurden die Thymuszellen mit 20 ml RPMI 1640 Medium (Microbiological Associates Bethesda Maryland) durch das Zellsieb in ein Becherglas gespritzt.
Während aus einem kleinen Teil der Zellsuspension die Zellkonzentration bestimmt wurde, wurde der übrige Teil bei $4^{o}C$ im Kühlschrank aufbewahrt. Damit konnte die Proliferationsfähigkeit der Zellen bis zur Transplantation erhalten werden.
Um jedem Tier $2x10^{6}$ Zellen zu übertragen, wurden von der auf 10^{7} Zellen pro ml eingestellten Zellsuspension 0,2 ml injiziert. Zu diesem Zweck wurden die Tiere in einen eigens dafür angefertigten Käfig gesetzt, der so gebaut war, daß sich die Maus bei der Injektion nur geringfügig bewegen konnte. Die Injektion erfolgte in die Schwanzvenen. Nur wenn die injizierte Zellsuspension von Anfang bis zum Ende gut sichtbar intravenös abtransportiert wurde, wurde das jeweilige Tier zum Versuch verwendet. Diese Tiere wurden in die Käfige Nr. I und II verteilt. Der Käfig Nr. I wurde mit den Tieren K1-7 (mit physiologischer Kochsalzlösung behandelt) und C1-7 (mit "Chalon" behandelt) belegt. Die Tiere im Käfig Nr. II wurden mit K8-14 bzw. C8-14 bezeichnet.

4. Behandlung der Tiere

Die Zuordnung der jeweils ersten 10 Mäuse zu den Behandlungsgruppen (Kochsalz oder Extrakt) erfolgte derart, daß sich die Gewichte eines mit Kochsalz zu behandelnden und eines mit Extrakt zu behandelnden Tieres möglichst entsprachen. Die letzten 8 Tiere wurden so zugeordnet, daß sich das Gesamtgewicht der Tiere jeder Gruppe möglichst gut ausglich. Es wurden die Gewichte am 5. Tag nach der Transplantation zu Grunde gelegt.

Mit der Behandlung wurde begonnen, als die Krankheit klinisch anhand von tastbaren Lymphknoten im Inguinalbereich festgestellt worden war (33). Es wurde zunächst versucht, auch die Milz zu palpieren. Da jedoch die Tiere bei dieser Manipulation sehr nervös wurden, wurde diese Untersuchung abgebrochen.

Die ersten Injektionen erfolgten am 12. Tag p.t., nachdem am 10. Tag bei 7 und am 12. Tag bei 14 Tieren die inguinalen Lymphknoten relativ sicher getastet werden konnten. Es wurden jedem Tier der extraktbehandelten Gruppe in 2-tägigen Abständen zunächst 2 mg des etwas kürzer dialysierten Stoffes intravenös injiziert. Ab dem 20. Tag wurde der über 48 Stunden dialysierte Extrakt verabreicht, der weniger Cl-Ionen enthielt. Unter der Vorstellung, daß nun pro Gewichtseinheit des Extraktes die doppelte Menge wirksamer Substanz enthalten war, da das Extraktgewicht durch längere Dialyse auf die Hälfte zurückging, wurde nur noch 1 mg dieses Extraktes appliziert. Die Substanzen wurden wie unter Punkt II,1 beschrieben aufgearbeitet. Die Kontrolltiere erhielten ebenfalls in 2-tägigen Abständen jeweils 0,2 ml reine physiologische Kochsalzlösung intravenös verabreicht (Abbildung 2).

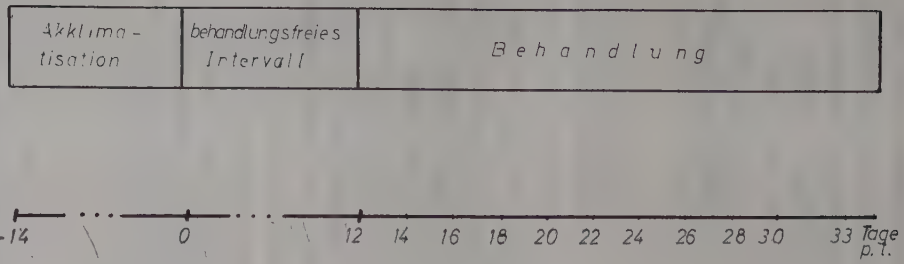

Abbildung 2: zeitlicher Ablauf des Versuchs mit Darstellung der Injektionszeiten und Injektionsmengen: 2mg Extrakt, 1mg des höhergereinigten Extrakts in jeweils 0,2ml physiol. Kochsalzlösung; 0,2ml reine physiol. Kochsalzlösung.
Am Tag -14: Ankunft der Tiere; am Tag 0: Zelltransplantation

Gelang die intravenöse Applikation nicht oder nur teilweise, so wurde der Rest intraperitoneal gespritzt. Mußte von dem Extrakt ein Teil in die Bauchhöhle appliziert werden, so wurde die Menge um bis zu 1,0 ml Lösung erhöht. Eine teilweise intraperitoneale Verabreichung mußte bei 7 extraktbehandelten Tieren insgesamt 9 mal durchgeführt werden. Bei 2 Tieren mußte der Extrakt insgesammt 3 mal in die Bauchhöhle gegeben werden.

5. Verlaufsbeobachtungen

Durch die tägliche Beobachtung der Tiere ab dem 12. Tag nach der Zelltransplantation sollte der klinische Verlauf der Krankheit bei den Tieren untersucht werden. Dabei wurde besonders darauf geachtet, daß die Tiere während der Beobachtung ruhig blieben und daß auch keine Veränderungen der Umgebung und des Klimas während dieser Zeit eintrat. Es wurde das Fell, die Augen, die Sitzhaltung (19), der Gang und der Gesamteindurck, den jedes Tier auf den Untersucher machte, beurteilt. Ab dem 10. Tag nach der Zelltransplantation wurde die Entwicklung der oberflächlichen inguinalen Lymphknoten durch Betasten in 2-tägigen Intervallen abgeschätzt. Es wurde folgende Punkteskala festgelegt:

<u>Fell:</u>	
angedeutete oder unsichere Auffälligkeit	+
sicher verändertes Haarkleid	++
s. struppiger und matter Pelz	+++
<u>Augen:</u>	
zweifelhafter Befund	+
Konjunktivitis, Sekretkrusten oder teilweiser Verschluß der Augenlider	++
Augentrübungen od. Verklebung d. Lidspalten	+++

Gang:

unsicher verändert	+
schleichend, schleppend, bewegungsarm	++
schwerste Beeinträchtigung u. Lähmungen einzelner oder aller Glieder	+++

Sitzhaltung:

unsicher verändert	+
deutlich verändert	++

Gesamteindruck:

unsicher verändert	+
deutlich verändert	++
sehr schlechter Eindruck (todkrank)	+++

inguinale Lymphknoten:

zweifelhafter Befund	+
sicherer Tastbefund, Lymphknoten kleiner als Linsengröße	++
linsengroßer Lymphknoten einseitig oder beidseits	+++
erbsengroßer Lymphknoten einseitig oder beidseits	++++

Weiter wurde das Gewicht jedes Tieres am 5., 12., 16., 20. Tag nach der Zelltransplantation und im folgenden alle 2 Tage kontrolliert.

Da die Überlebenszeit der Tiere das wichtigste Ergebnis der Untersuchung ist, wurde täglich 2 Mal kontrolliert, ob eines der Tiere verendet war. Wurde ein Tier morgens tot aufgefunden, so wurde davon ausgegangen, daß der neue Tag nicht erlebt wurde. Bei der Berechnung der Überlebenszeit wurde zum vorhergehenden Tag ein halber Tag hinzugerechnet. Wurde dagegen ein Tier im Laufe

des Tages tot aufgefunden, so wurden die überlebten Tage gleichgesetzt mit der Anzahl der Tage nach der Zelltransplantation.
Sofort nach dem Kontrollieren der Käfige wurden die toten Mäuse seziert, um eine weitere Autolyse zu vermeiden. Es wurden 5 Lymphknotengruppen (siehe Tabelle 2), Thymus, Milz und Leber entnommen. Alle sezierten Organe bzw. Lymphknotengruppen wurden getrennt auf einer Präzisions-Waage gewogen.

6. Signifikanzprüfung
Alle Ergebnisse wurden nach dem Prinzip von Wilcoxon (38) auf ihre Signifikanz geprüft.

III E R G E B N I S S E

In den folgenden Tabellen sind sowohl sämtliche Einzelergebnisse der Untersuchung, als auch die Durchschnittsergebnisse der jeweiligen Versuchsgruppe zusammengestellt.
Die durchschnittlichen Ergebnisse einer jeden Versuchsgruppe sind außerdem in Schaubildern dargestellt.
Das Tier K14 überlebte als einziges Versuchstier die Zelltransplantation mehrere Monate. Um die Ergebnisse der verschiedenen Versuchsgruppen untereinander vergleichen zu können, wurden die Werte dieses Tieres bei der Ermittlung der Gruppenergebnisse nicht berücksichtigt, weil angenommen wurde, daß die Leukämie nicht angegangen war. Die Einzelergebnisse der Verlaufsbeobachtungen an diesem Tier wurden in den Tabellen in Klammern gesetzt.

1. Überlebenszeit

Vom 18. Tag nach der Zelltransplantation an verstarben die Tiere je nach Versuchsgruppe in einem eigenen Modus. Abbildung 3 zeigt, wie die Tiere nacheinander verstarben. In Abhängigkeit von den überlebten Tagen (Abszisse) ist der prozentuale Anteil der noch lebenden Tiere einer jeden Gruppe aufgeführt (Ordinate).
Die Einzelergebnisse sind in Tabelle 1 dargestellt.

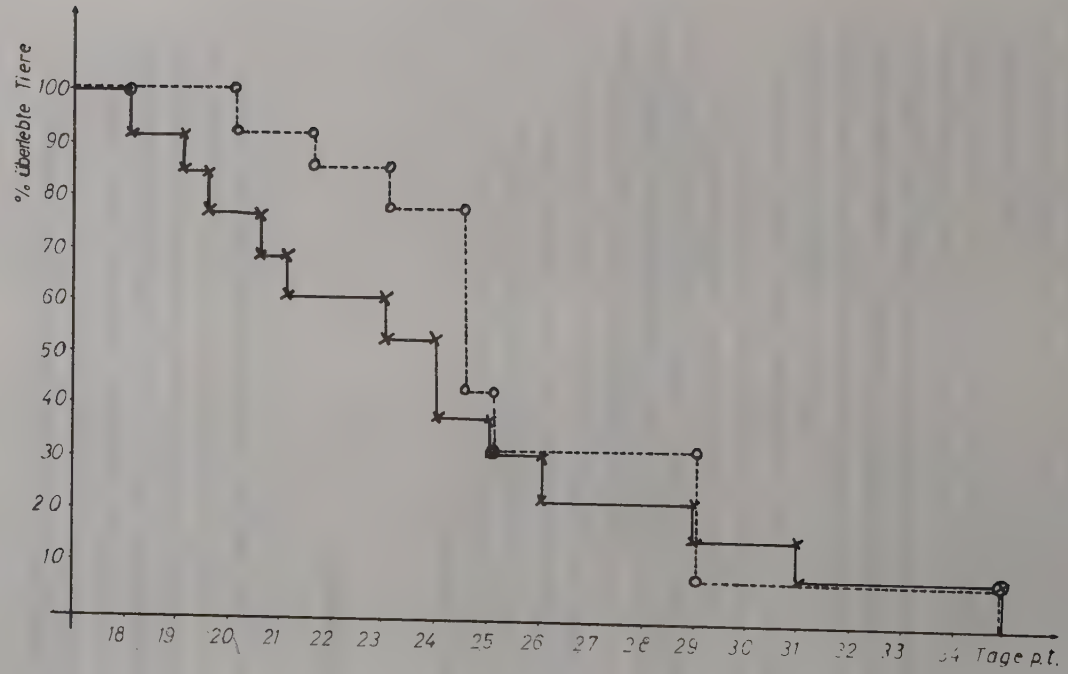

Abbildung 3: Absterbefolge der Tiere

o---o extraktbehandelte Tiere

x---x Kontrolltiere

Tabelle 1

kochsalzbehandelte Tiere:		extraktbehandelte Tiere:	
Bez. d. Tiere	überlebte Tage	Bez. d. Tiere	überlebte Tage
K 1	24,5	C 1	24,0
K 2	23,5	C 2	24,0
K 3	23,5	C 3	24,5
K 4	22,5	C 4	34,5
K 5	28,5	C 5	23,0
K 6	20,5	C 6	28,5
K 7	25,5	C 7	24,0
K 8	34,5	C 8	19,5
K 9	18,5	C 9	24,5
K 10	19,0	C 10	24,0
K 11	17,5	C 11	28,5
K 12	20,0	C 12	24,5
K 13	30,5	C 13	21,0
K 14	>180,0	C 14	24,0
K 1-13	308,5	C 1-14	348,5
$\varnothing_K$	23,7	$\varnothing_C$	24,9

Tabelle 1: Überlebenszeit der einzelnen Tiere nach der Zelltransplantation

Da die Tiere nicht in regelmäßigen Abständen verstarben, veränderte sich die Differenz der durchschnittlich überlebten Tage zwischen den einzelnen Gruppen täglich. Um das gegenseitige Verhalten der Kollektive über den ganzen Untersuchungszeitraum vergleichen zu können, wurden die von einer Gruppe durchlebten Tage nach der Transplantation der Thymuszellen jeweils aufsummiert und durch die Ausgangszahl der entsprechenden Gruppe dividiert. Der Abstand der beiden Kurven gibt die Verlängerung der Überlebenszeit durch die Behandlung an (Abbildung 4).

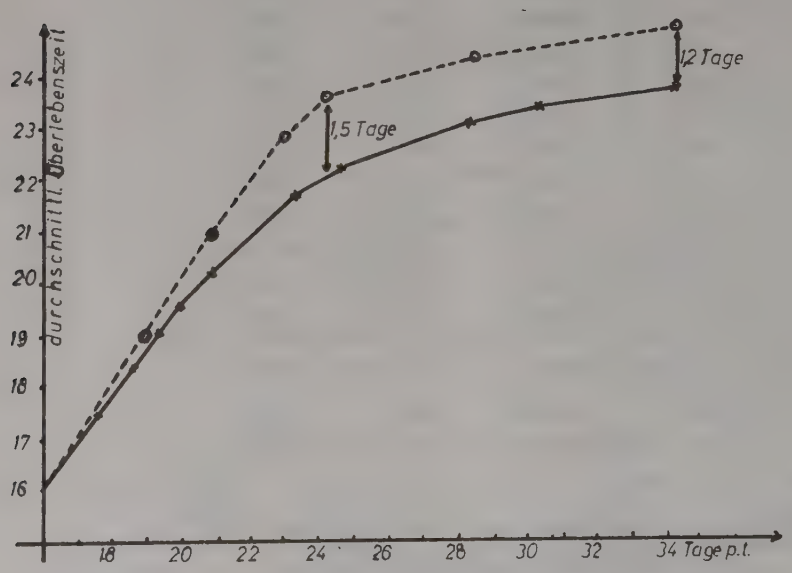

Abbildung 4: durchschnittliche Überlebenszeit pro Tier, bezogen auf die Ausgangstierzahl jeder Gruppe

o-----o extraktbehandelte Tiere
x——x kochsalzbehandelte Tiere

2. Sektionsgewichte

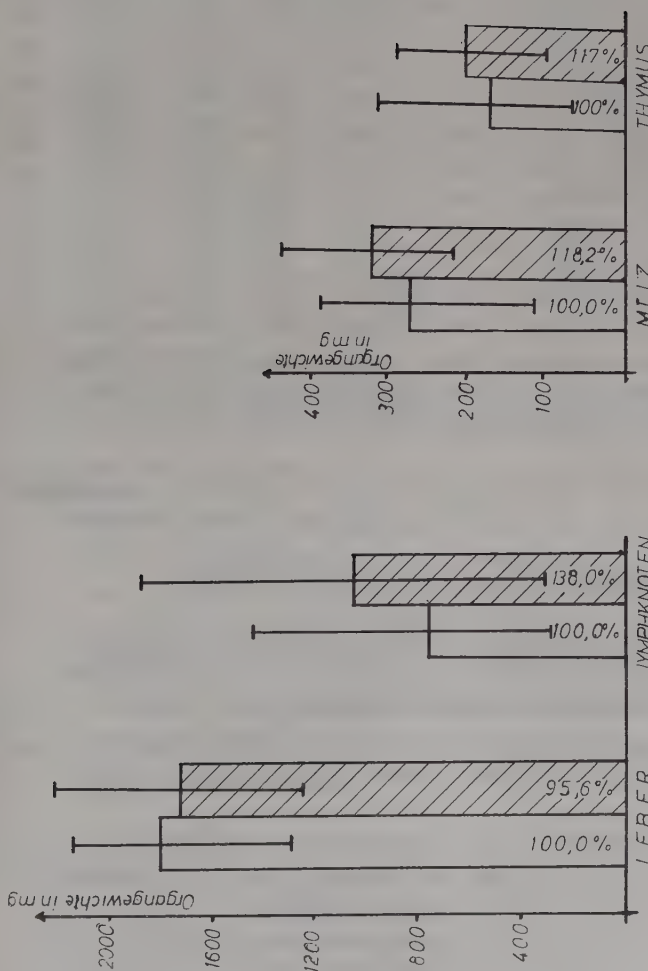

Abbildung 5: Vergleich der mittleren Organgewichte von ☐ NaCl-behandelten (n=13) und ▨ extraktbehandelten Tieren (n=14).

Tabelle 2u.3: Einzel- und Durchschnittsgewichte der sezierten Organe in mg

Tier	Thymus	Milz	Leber	Lymphknotengruppen I	II	III	IV	V
C1	290,2	314,9	2146,0	114,2	110,4	150,9	191,1	714,0
C2	143,8	353,4	1550,2	73,0	63,7	60,2	135,4	534,9
C3	195,0	364,3	1576,0	73,0	61,2	71,2	179,7	652,5
C4	230,1	385,5	2208,0	135,4	123,2	120,3	202,3	924,1
C5	132,5	326,9	1660,0	39,0	39,9	46,4	106,5	307,3
C6	220,3	275,8	1270,2	100,3	86,4	114,3	219,8	769,0
C7	244,1	439,7	1725,2	82,9	46,3	80,6	142,2	642,2
C8	99,6	221,5	1624,0	26,3	31,4	25,4	67,3	145,8
C9	261,5	300,1	1828,0	142,2	109,7	112,5	221,2	1072,0
C10	162,2	327,4	1246,0	71,0	55,6	42,5	84,8	473,4
C11	278,1	314,0	1708,0	323,5	137,8	132,9	326,8	950,4
C12	232,3	287,7	1608,0	70,2	75,4	91,6	146,9	871,5
C13	165,7	231,2	1862,0	38,6	39,0	52,0	83,1	228,3
C14	248,4	397,4	2053,0	89,6	98,6	82,5	145,1	692,1
S	2903,8	4539,8	24028,6	1378,8	1078,6	1183,2	2252,2	8978,2
ø	207,3	324,2	1719,0	98,5	77,0	84,5	160,9	641,3
%	117,0	118,2	95,6	153,7	100,1	139,5	137,0	142,5

Tabelle 2: Organgewichte extraktbehandelter Tiere

Die Prozentwerte geben das relative mittlere Organgewicht der jeweiligen Gruppe an, bezogen auf das mittlere Organgewicht des NaCl-behandelten Kollektivs (Tab. 3).
Das Gewicht aller Lymphknoten betrug pro Tier im Durchschnitt 1062,9 mg (138,0%); Spanne: 296,2 - 1871,4 mg.

Lymphknotengruppen: I Ln. inguinales superficiales
II Ln. illiacales interni et externi
III Ln. paraaortales
IV Ln. axillares superficiales
V Ln. mesenteriales

Tier	Thymus	Milz	Leber	Lymphknotengruppen I	II	III	IV	V
K1	193,2	299,1	2066,0	58,0	56,4	52,2	114,2	459,0
K2	131,8	260,4	2130,1	27,8	37,8	35,2	50,4	322,0
K3	200,0	299,6	1707,1	64,6	77,4	160,9	157,8	600,0
K4	157,3	216,6	1545,1	67,0	59,7	63,1	122,6	557,2
K5	172,5	316,5	1967,0	49,3	222,0x)	58,9	84,5	90,3
K6	184,2	391,6	1864,0	52,6	61,1	23,7	114,8	438,1
K7	318,0	331,4	1717,5	167,8	98,7	86,3	266,1	796,8
K8	226,3	154,4	xx)	96,1	66,5	104,7	202,1	896,5
K9	268,7	135,2	1656,7	63,1	35,2	38,1	66,9	250,9
K10	105,9	335,9	1819,4	34,1	33,8	45,9	66,9	208,3
K11	173,9	366,6	2056,0	54,1	46,0	39,6	63,0	XXX)
K12	100,0	115,1	1763,8	39,8	26,6	20,9	56,7	120,0
K13	70,6	342,5	1292,0	58,8	67,8	58,4	161,0	648,1
S	2302,4	3564,9	21584,7	833,1	1000,0	787,9	1527,0	5387,2
Ø	177,1	274,2	1798,7	64,1	76,9	60,6	117,4	448,9

Tabelle 3: Organgewichte kochsalzbehandelter Tiere

x) Beim Tier K5 scheint sich die Krankheit hauptsächlich im Becken manifestiert zu haben, sodaß die Ln. illiacales int. et ext. von einer riesigen Tumormasse nicht abgegrenzt werden konnten.

xx) Die Leber war bei der Sektion bereits autolytisch

xxx) K11 war das erste verstorbene Tier. Bei ihm wurde die Lymphknotengruppe V noch nicht entnommen.

Das Gewicht aller Lymphknoten betrug pro Tier im Durchschnitt 769,4 mg, bei einer Spanne von 264,0 - 1415,7 mg.

3. Gewichte

Die Gewichte der Tiere beider Versuchsgruppen wurden vor und während der Behandlung bestimmt. Unter der Behandlung zeigt sich eine unterschiedliche Entwicklung der Gewichte beider Gruppen (Abb. 6 und 7).

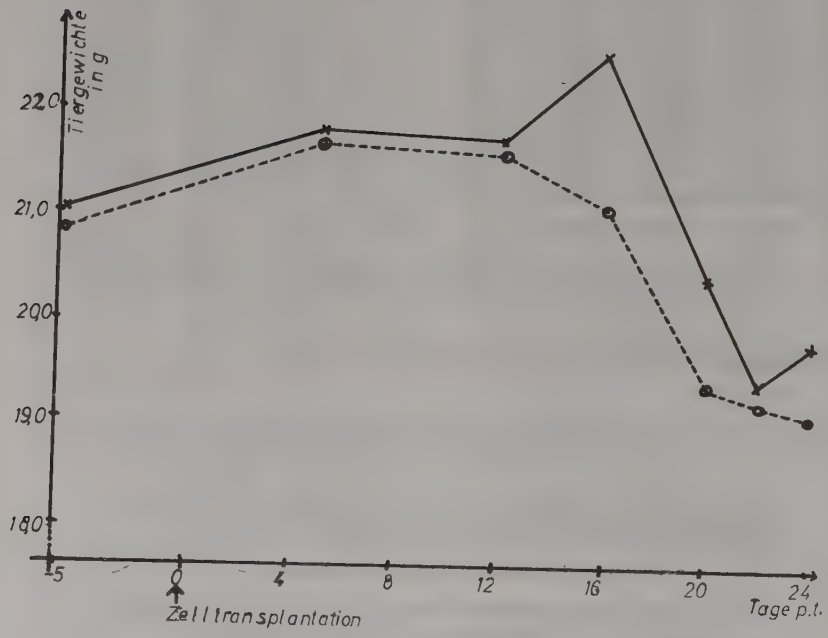

Abbildung 6: Entwicklung der Tiere im Gruppendurchschnitt während der Beobachtungszeit
o------o extraktbehandelte Tiere
x——x Kontrolltiere

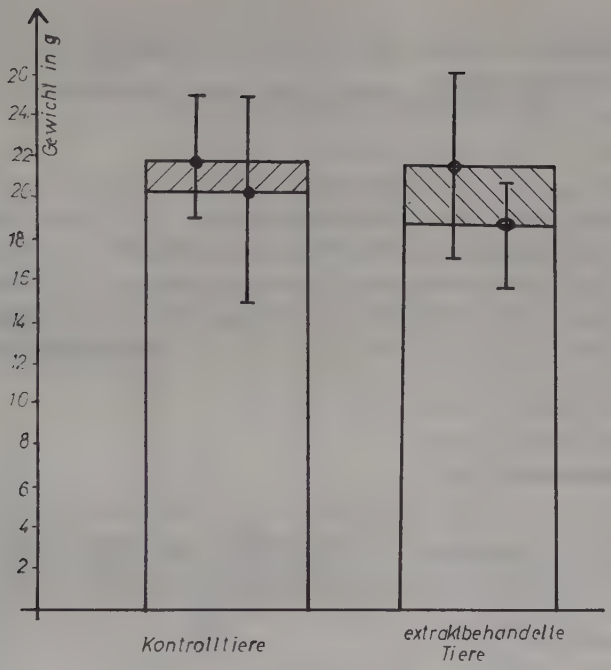

Abbildung 7: Vergleich der Gewichte, die als letzte vor dem Tod der jeweiligen Tiere festgestellt wurden, mit den Gewichten zu Behandlungsbeginn

Gewichtsabnahme unter der Behandlung mit dem Extrakt

Gewichtsabnahme der Kontrolltiere im Behandlungszeitraum

In Tabelle 4 sind die Einzelgewichte der Tiere an verschiedenen Tagen aufgeführt. Die Gewichte sind in Gramm angegeben.

Tabelle 4

Tag	-5.	+5.	12.	16.	20.	22.	24.	26.	28.	30.	
kochsalzbehandelte Tiere:											
K1	21,9	22,3	21,2	22,8	20,7	20,0	19,0				+
K2	20,1	21,8	22,0	22,0	22,0	21,0		+			
K3	20,4	20,3	19,0	20,2	18,5	17,0		+			
K4	18,4	20,5	?	20,5	18,0	18,3		+			
K5	20,5	21,9	21,0	24,5	23,8	24,0	24,8	25,6	24,8		+
K6	19,8	20,2	21,0	19,8		+					
K7	25,9	25,0	25,0	25,8	22,5	21,0	22,0		+		
K8	20,0	20,2	21,5	22,0	19,2	18,0	17,0	16,8	16,9	16,0	+
K9	21,3	21,0	21,8	22,0		+					
K10	20,0	19,9	20,5	21,8		+					
K11	20,0	22,8	22,7	22,0		+					
K12	25,2	25,1	24,8	24,8		+					
K13	21,3	22,2	22,0	24,0	19,0	16,0	16,2	18,9	21,0	18,2	+
K14	20,1	21,3	21,0	26,1	20,5	20,5	20,5	20,4	21,4	21,2	
Ø	21,0	21,8	21,7	22,6	20,4	19,4	19,8	20,4	20,7	17,1	
extraktbehandelte Tiere:											
C1	24,0	24,7	24,0	24,0	22,0	21,0		+			
C2	20,0	21,0	19,8	18,0	17,0	17,2		+			
C3	20,5	20,6	21,8	20,4	19,5	19,0	18,0		+		
C4	19,9	20,8	21,0	20,8	23,8	21,2	20,0	21,0	20,9	20,5	+
C5	21,0	21,8	20,8	29,8	19,0	21,0		+			
C6	17,0	19,0	19,0	19,8	18,3	17,0	17,0	15,9	16,8		+
C7	22,6	23,5	22,5	22,0	19,5	19,8	19,0		+		
C8	16,9	18,4	19,0	19,6		+					
C9	22,6	22,8	23,0	23,0	20,5	19,2	20,0		+		
C10	19,6	20,3	20,5	17,8	16,2	16,0		+			
C11	23,4	24,8	25,2	25,2	20,0	21,0	21,8	21,0	21,2		+
C12	21,8	22,0	22,5	23,2	19,2	18,5	18,2		+		
C13	20,0	20,5	20,2	21,0	18,5		+				
C14	22,0	23,4	23,0	21,0	19,0	19,5		+			
Ø	20,8	21,7	21,6	21,1	19,4	19,2	19,1	19,3	19,6	20,5	

Tabelle 4: Einzelgewichte der Tiere an verschiedenen Tagen

4. Beurteilung klinischer Krankheitszeichen

Repräsentativ für alle Verhaltensbeobachtungen ist in Abbildung 8 die durchschnittliche Beurteilung des Gesamteindrucks dargestellt. Die Einzelergebnisse zeigt Tabelle 5. Die Ergebnisse der Parameter Fell, Augen, Gang und Sitzhaltung sind in den Tabellen 6 bis zusammengefaßt.

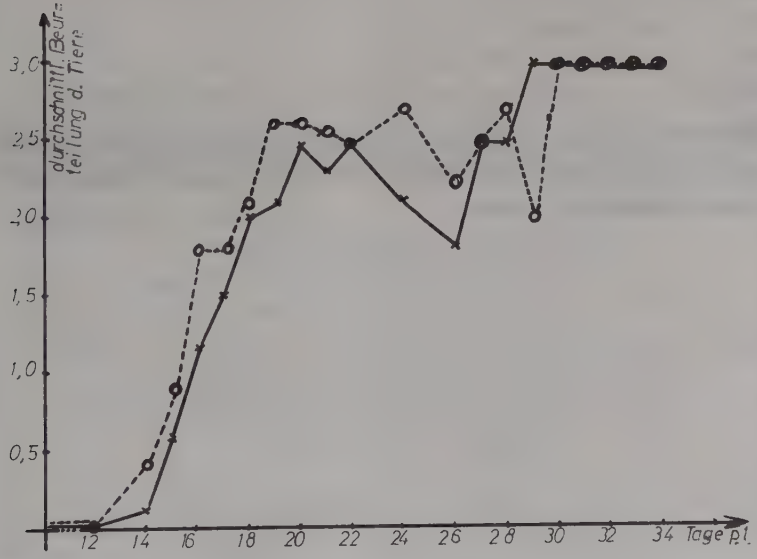

Abbildung 8: Beurteilung des Gesamteindrucks, den die Tiere an verschiedenen Tagen auf den Beobachter machten.

o----o extraktbehandelte Tiere
x——x kochsalzbehandelte Tiere

Tabelle 5

Tag	14.	15.	16.	17.	18.	19.	20.	21.	22.	24.	26.	27.	28.	29.
kochsalzbehandelte Tiere:														
K1	-	1	-/1	1	1 1/2	1	2	2	2	3	+			
K2	-	-	1	1	1 1/2	1	1 1/2	1 1/2	2/3	+				
K3	-	-	2	2	2	2	3	3	2/3	+				
K4	1	2	2	2/3	2/3	2/3	2/3	3	3	+				
K5	-	-	-/1	-/1	-/1	-/1	-/1	-/1	-/1	-/1	-/1	2	2/3	+
K6	-	-	-	1	2	3	3	+						
K7	-	-	2	-/1	2/3	2/3	3	2/3	2/3	1/2	+			
K8 x)	-	-	2	2	2	2/3	2/3	3	3	2/3	3	3	3	3
K9	-	1	2	2	2/3	+								
K10	-	-	-/1	1/2	2	+								
K11	-	1/2	2	2/3	+									
K12	-	1	-/1	1	2/3	3	3	+						
K13xx)	-	1	1	1 1/2	2	3	3	3	3	3	2	2/3	2	3
K14	-	1	1 1/2	1	1	1	1	2	-/1	-/1	1	-/1	-/1	..
Ø	0,1	0,6	1,2	1,5	2,0	2,1	2,4	2,3	2,4	2,1	1,8	2,5	2,5	30
extraktbehandelte Tiere:														
C1	-	1	1/2	2	2/3	3	2/3	2/3	2/3	3	+			
C2	-	-	1	2	2	3	3	3	2	3	+			
C3	1	1/2	2	1	2	2/3	2/3	2/3	2/3	3	+			
C4 x)	-	-	-/1	-/1	-/1	-/1	-/1	-/1	2	2	1	2	2/3	2
C5	-	2	2	2	2	2/3	2/3	2	2	+				
C6	-	1	2	1/2	2/3	2/3	2/3	2/3	2	2/3	2/3	2/3	2/3	+
C7	-	1	2	1/2	2/3	3	3	2	2/3	3	+			
C8	-	-	1	2	2	3	+							
C9	1	1	2/3	2	2/3	3	3	3	2/3	2/3	+			
C10	2	2	3	2/3	3	3	3	3	3	3	+			
C11	-	-	1	1	1/2	2/3	3	3	2/3	2/3	3	3	3	+
C12	-	-	2	2	2	2/3	2/3	3	2/3	2/3	+			
C13	-	1	1/2	2	2	2/3	2/3	3	+					
C14	1	2	2/3	3	2/3	3	3	3	2/3	+				
Ø	0,4	0,9	1,8	1,8	2,1	2,6	2,6	2,5	2,4	2,7	2,2	2,5	2,7	20

Tabelle 5: Einzelbewertungen des Gesamteindrucks

x) vom 30.-34. Tag mit 3 Punkten bewertet
xx) am 30. Tag mit 3 Punkten bewertet

Tabelle 6

Tag	14.	15.	16.	17.	18.	19.	20.	21.	22.	24.	26.	27.	28.	29.
kochsalzbehandelte Tiere:														
K1	-	1	1	1	1/2	2	2	1/2	2	3	+			
K2	-	-	1	-/1	2	1	2	2	3	+				
K3	-	-	1	1	2	2	2/3	2/3	2/3	+				
K4	1	1	2	1/2	2/3	3	2	3	3	+				
K5	-	-	1	1	-/1	1	-/1	-/1	1	-/1	-/1	2/3	1/2	+
K6	-	-	-	1	2	3	3	+						
K7	-	-	1/2	-/1	2/3	2/3	2	2	2	2	+			
K8 x)	-	-	1/2	2	2	3	3	3	2/3	3	2/3	2/3	3	2/3
K9	-	1	2	2	2/3	+								
K10	-	-	-/1	1/2	2	+								
K11	2	1/2	2	2	+									
K12	-	1	1	1/2	2	2	3	+						
K13	-	1/2	1	1/2	2	3	3	3	3	3	2	3	2	xx)
[K14	-	1/2	2	1	1	1	2	-/1	1	1	-/1	-/1	-/1	...]
Ø	0,2	0,5	1,2	1,3	2,0	2,2	2,3	2,2	2,4	2,3	1,7	2,7	2,2	28
extraktbehandelte Tiere:														
C1	-	1	2	2	2/3	2/3	2/3	3	2/3	2/3	+			
C2	-	-	1/2	2	2	3	2/3	3	2	3	+			
C3	2	1	2	1/2	2	2	2/3	2	1/2	2/3	+			
C4 x)	-	-	1	1	1	1	-/1	-/1	1/2	2/3	2/3	2/3	2	2
C5	-	1/2	2	2	2	2/3	2/3	2	2	+				
C6	-	1	2	1/2	2	2/3	2	2/3	2	2/3	2	2/3	2	+
C7	-	1	2	1	2	2/3	3	3	2/3	2	+			
C8	-	1	1/2	1/2	2	3	+							
C9	1	1	2	2	2/3	3	3	3	2/3	2/3	+			
C10	1/2	1	2	2	2/3	3	3	3	3	2/3	+			
C11	-	-/1	1	2	2	2/3	3	3	2/3	3	3	3	3	+
C12	-	-	1/2	1/2	2	3	3	3	2/3	2/3	+			
C13	-	1	1/2	2	2	2/3	3	3	+					
C14	1	2	2	2/3	2	3	3	3	3	+				
Ø	0,4	0,9	1,7	1,8	2,0	2,6	2,6	2,6	2,3	2,5	2,5	2,7	2,3	20

Tabelle 6: Einzelbewertungen des Fells

x) vom 30.-34. Tag mit 3 Punkten bewertet
xx) am 29. und 30. Tag mit 3 Pkt. bewertet

Tabelle 7

Tag	15.	16.	17.	18.	19.	20.	21.	22.	24.	26.	27.	28.	29.	30.
kochsalzbehandelte Tiere:														
K1	-	-	-/1	-	-	1/2	-/1	2	3	+				
K2	-	-	-	-/1	-	2	-	2	+					
K3	-	-	-/1	1/2	1	2/3	3	2	+					
K4	-	1	1	1/2	1/2	1/2	1/2	1/2	+					
K5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1/2	+	
K6	-	-	-	1	2/3	2/3	+							
K7	-	1	-	1/2	1	3	2/3	2	1	+				
K8 x)	-	-/1	1/2	1/2	2	2/3	3	2	2	2	2	2/3	1/2	
K9	-	1	1	1/2	+									
K10	-	-	-	-/1	+									
K11	-	-/1	2	+										
K12	-	-	-/1	1	3	3	+							
K13	-/1	-	-/1	1/2	3	3	3	2/3	2/3	2/3	2	2	2	2
K14	-	-/1	1	-	-	-	1	1	-	-	-	-	-	-
ø	-	0,3	0,6	1,0	1,4	2,1	1,7	1,7	1,7	1,5	1,7	2,0	1,8	2,0
extraktbehandelte Tiere:														
C1	-	-	1	1/2	2	1/2	1/2	2	3	+				
C2	-	-	1	1/2	2/3	2/3	2/3	2	3	+				
C3	1	1	-/1	1/2	2	2/3	2	1/2	2	+				
C4 x)	-	-	-	-	-	-	-	1	2	1	1	1/2	1/2	
C5	1	1	-	1	1	1/2	1	1	+					
C6	-	1	1	1/2	1/2	1/2	1/2	1	2	1/2	1/2	1	+	
C7	-	2	-	1	2	2	1	1	3	+				
C8	-	-	1	1	3	+								
C9	-	1	1	2/3	3	2/3	2/3	2	2/3	+				
C10	1	1	1/2	2/3	3	2/3	2	2	3	+				
C11	-	1	1	-/1	1	2/3	2	2	2/3	3	2	2/3	+	
C12	-	1	1	1	1/2	2/3	2	2	2	+				
C13	-	1	-	1/2	2/3	2	3	+						
C14	1	1	1	-/1	2	2/3	2	1/2	+					
ø	0,3	0,7	0,8	1,3	1,9	2,0	1,8	1,6	2,5	1,8	1,5	1,7	1,5	2,0

Tabelle 7: Beurteilung der Augen

x) vom 30. bis 34. Tag p.t. wurde mit 2 Punkten bewertet

Tabelle 8

Tag	14.	15.	16.	17.	18.	19.	20.	21.	22.	24.	26.	27.	28.	29.	
kochsalzbehandelte Tiere:															
K1	-	-/1	-/1	1/2	2/3	1	2	2	2/3	3	+				
K2	-	-	1	1/2	2	1	1/2	2	2	+					
K3	-	-	3	2/3	3	3	3	3	2/3	+					
K4	1/2	2	3	3	2/3	3	2/3	2/3	2/3	+					
K5	-	-	-/1	1	-/1	-/1	-/1	-/1	-/1	-	-	2	3	+	
K6	xx)-	-	-	2	3	3	3	+							
K7	-	-	1/2	-/1	2/3	2/3	3	2	2	1	+				
K8	x) -	-	2/3	3	3	2/3	2/3	3	2/3	3	3	2/3	3	3	
K9	-	-	2	2/3	2	+									
K10	-	-	-/1	2/3	3	+									
K11	2	1	2	3	+										
K12	-	-	1	2	2/3	3	3	+							
K13	xxx) -	1/2	-/1	2	2/3	3	3	3	3	3	2	2/3	2	3	
K14	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Ø	0,3	0,4	1,4	2,1	2,2	2,3	2,4	2,3	2,2	2,0	1,8	2,3	2,7	3,0	
extraktbehandelte Tiere:															
C1	xx)-	1	2	3	2	3	3	3	2/3	3	+				
C2	-	-	1/2	2	2/3	3	2/3	2/3	2	3	+				
C3	2	1/2	3	2	2	3	2	2/3	2	3	+				
C4	x) xx) -	-	-/1	-/1	1	-/1	1	1	2	3	3	3	3	3	
C5	-	1/2	3	3	3	2/3	2/3	2	2	+					
C6	-	1/2	2	2	2/3	2	2	1	2	2	1/2	2	2	+	
C7	xx)-	1	3	3	3	3	3	3	3	3	+				
C8	-	-	1	2	2	3	+								
C9	1/2	1/2	2	3	3	3	3	2/3	2	2/3	+				
C10	xx)3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	+				
C11	xx)-	-	-	2	3	3	3	3	2	2/3	2/3	2/3	2/3	+	
C12	-	-/1	2	3	3	3	3	3	2/3	3	+				
C13	-	1	1	2	2	2/3	2	3	+						
C14	1/2	3	3	3	3	3	3	3	3	+	xx)				
Ø	0,6	1,1	1,9	2,4	2,5	2,7	2,5	2,5	2,3	2,8	2,3	2,5	2,5	3,0	

Tabelle 8: Beurteilung des Gangs

x) vom 30.-34. Tag mit 3 Punkten bewertet
xxx) am 30. Tag mit 3 Punkten bewertet
xx) diese Tiere zeigten Lähmungserscheinungen

Tabelle 9

Tag	14.	15.	16.	17.	18.	19.	20.	21.	22.	24.	26.	27.	28.	29.
kochsalzbehandelte Tiere:														
K1	-	1	-	1/2	1/2	1	2	2	2	2	+			
K2	-	-	1	1	1	1	1/2	1	2	+				
K3	-	-	1	2	2	2	2	2	2	+				
K4	-	1/2	2	2	2	2	2	2	2	2	+			
K5	-	-	1	-/1	-	1	1	1	-/1	1	1	1	1	+
K6	-	-	-	1	2	2	2	+						
K7	-	-	1/2	1	2	2	2	2	2	2	+			
K8 x)	-	-	1/2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
K9	-	1	2	2	2	+								
K10	-	-	-	1/2	2	+								
K11	-	1	2	2	+									
K12	-	-	-	1/2	2	2	2	+						
K13 xx)	-	1	1	1/2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
K14	-	-/1	1	1	1	-/1	1/2	1/2	-/1	1	-	-/1	-/1	-/1
Ø	-	0,4	1,0	1,4	1,7	1,7	1,8	1,8	1,8	1,8	1,7	1,7	1,8	2,0
extraktbehandelte Tiere:														
C1	-	-	1/2	2	2	2	2	2	2	2	+			
C2	-	-	1/2	2	2	2	2	2	2	2	+			
C3	-	1	2	2	2	2	2	2	2	2	+			
C4 x)	-	-	-	-/1	1	1	1	-/1	1/2	2	1/2	2	2	2
C5	-	2	2	2	2	2	2	2	2	2	+			
C6	-	-	1/2	1/2	2	2	2	2	2	2	2	2	1	+
C7	-	1	2	1	2	2	2	2	2	2	+			
C8	-	1	1	1	2	2	+							
C9	-	-/1	2	2	2	2	2	2	2	2	+			
C10	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	+			
C11	-	-	1	1/2	2	2	2	2	1/2	2	2	2	2	+
C12	-	-	2	2	2	2	2	2	2	2	+			
C13	-	-/1	1	2	2	2	2	2	+					
C14	-	2	2	2	2	2	2	2	2	+				
Ø	0,2	0,7	1,5	1,6	1,9	1,9	1,9	1,9	1,9	2,0	1,8	2,0	1,7	2,0

Tabelle 9: Beurteilung der Sitzhaltung

x) vom 30.-34. Tag mit 2 Punkten bewertet
xx) am 30. Tag mit 2 Punkten bewertet

Bei der Beurteilung der inguinalen Lymphknoten gelang es, vier verschiedene Größen zu unterscheiden (Abbildung 9). Damit wurde eine bessere Differenzierung möglich. Die Einzelergebnisse sind in Tabelle 10 zusammengefaßt.
Die Korrelation der Tastbefunde mit den Sektionsgewichten wird in Abbildung 10 dargestellt. Der auf der Abszisse aufgetragene Tastbefund wurde aus dem Durchschnitt der beiden letzten Untersuchungen vor dem Tod des entsprechenden Tieres errechnet.

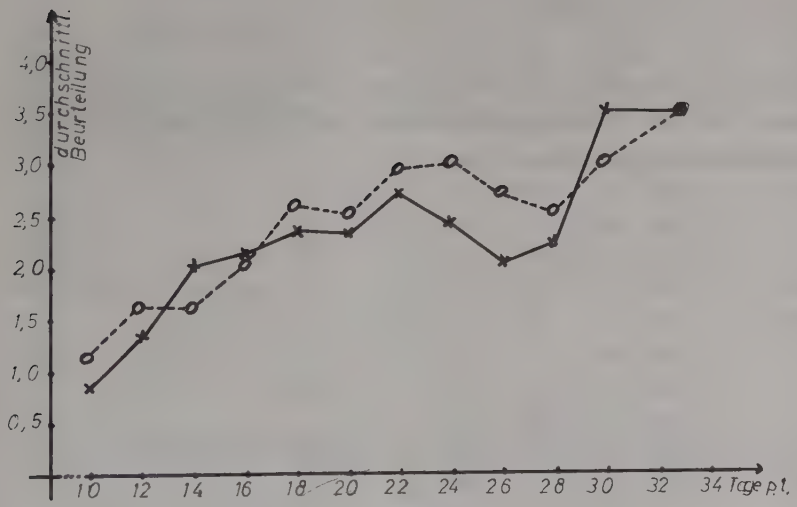

Abbildung 9: Beurteilung der inguinalen Lymphknoten
o---o extraktbehandelte Tiere
x——x kochsalzbehandelte Tiere

Tabelle 10

Tag	10.	12.	14.	16.	18.	20.	22.	24.	26.	28.	30.	33.	
kochsalzbehandelte Tiere:													
K 1	1	1	1/2	2	-/1	2	3	3	+				
K 2	2	1	-/1	1/2	-/1	2	3	+					
K 3	2	2	2/3	2/3	2/3	2/3	3	+					
K 4	1	2	3	2	3	2/3	3	+					
K 5	-	-	2	1	1/2	-/1	1/2	1	1 hat über dem				
K 6	1	1	2	1	?	3	+	Becken einen großen Höcker!					
K 7	-	2	2	2/3	3	3	3	3	+				
K 8	1	1	3	2/3	3	3	3	3	3	3	3/4	3/4	+
K 9	2	1	2/3	3	2/3	+							
K10	-	2	1	?	3	+							
K11	-	2	2	3	+								
K12	-	1	2	1/2	3	+							
K13	1	1	2	3	3	?	2	2	2	2/3	3/4	+	
[K14	2	1	2/3	2/3	1/2	-/1	1	1/2	-	-	-	-]	
Ø	0,8	1,3	2,0	2,1	2,3	2,3	2,7	2,4	2,0	2,2	3,5	3,5	
extraktbehandelte Tiere:													
C 1	2	2/3	1	2	3	3	3/4	+					
C 2	1	1/2	1/2	2	3	2/3	2/3	+					
C 3	1	1/2	2	2/3	3	3	3	+					
C 4	1	1/2	-/1	1/2	1/2	-/1	1/2	2	2	2	3	3/4	+
C 5	1	1	2	2	2/3	2/3	3	+					
C 6	1	2	1/2	2/3	3	3	3	2/3	3	3	2/3	+	
C 7	1	2	1/2	2	2/3	2/3	2/3	3/4	+				
C 8	-	1	2	1/2	3	+							
C 9	2/3	1	1	3	2/3	3	3	3/4					
C10	1	2/3	1	2	3	3	3	+					
C11	-	2	2	2	2	3	3	3/4	3	3	+		
C12	2	1	2	2	2/3	2/3	3	3	+				
C13	1	1	2	?	2	2	+						
C14	1	2	2	1	2/3	2	3	+					
Ø	1,1	1,6	1,6	2,0	2,6	2,5	2,9	3,0	2,7	2,5	3,0	3,5	

10%

Tabelle 10: Beurteilung der Lymphknoten (inguinal)
10%: auf dem 10%-Niveau signifikant

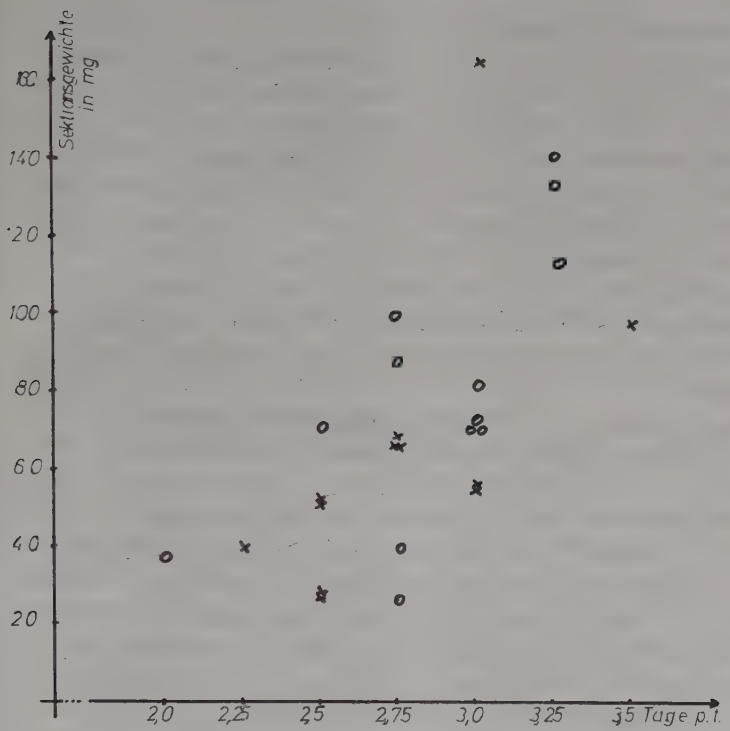

Abbildung 10: Korrelation der Tastbefunde bei der Untersuchung der inguinalen Lymphknoten mit den Sektionsgewichten derselben Lymphknoten

o extraktbehandelte Tiere
x kochsalzbehandelte Tiere

IV. D I S K U S S I O N

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, in Analogie zu Versuchen von Rytömaa et al., die durch Behandlung mit Granulozytenchalon Regressionen bei Ratten mit generalisierter Chloroleukämie beobachten konnten, auszutesten, ob der teilweise gereinigte Kalbsmilzextrakt mit den Eigenschaften eines Lymphocytenchalons (14,39) die Überlebenszeit von Mäusen mit "first-passage-AK-Lymphomen" verlängern kann. Die Ergebnisse zeigen, daß durch wiederholte intravenöse Injektionenen des Extraktes eine nicht signifikante Verlängerung der Überlebenszeit von 1,2 Tagen erreicht werden konnte. Eine Reduktion der Tumorzellmasse ist aus der Gewichtsbestimmung der lymphatischen Organe und der Leber nicht ersichtlich.

Zur Transplantation der "first-passage-AK-Lympome" auf gesunde, syngene Mäuse wurden Thymuszellen verwendet, da Skipper et al. (33) mit dieser Zellart eine Morbidität von mehr als 99% erreichten. Eigene Versuche (Wörz (39), Ganser (11)) zeigten, daß die Thymuszellen leicht zu vereinzeln und zu zählen sind. Damit sind wesentliche Voraussetzungen für eine reproduzierbare Transplantation erfüllt. Im Versuch führten 28 Zellübertragungen zu 27 tödlichen Lymphomen. Die Anzahl der transplantierten Zellen lag mit 2×10^6 Zellen pro Tier im üblichen Bereich (3,33).

Nach Ergebnissen von Vorversuchen war zu erwarten, daß die Tiere spätestens 6 Wochen nach der Zelltransplantation verstorben sind. Somit konnte davon ausgegangen werden, daß die Erkrankung bei allen Tieren ausschließlich auf die Transplantation maligner Thymuszellen zurückzuführen ist. Damit ist sichergestellt, daß bei allen Tieren die Krankheit zum selben Zeitpunkt begonnen hat.

Im Gegensatz zu Versuchen von Garcia-Giralt et al. (12), die zur Immunsuppression bei Mäusen 5 mg ihres Extraktes injizierten, wurden beim vorliegenden Versuch zunächst alle 2 Tage 2 mg und später 1 mg des Extraktes verabreicht.
Laurence und Randers Hansen (20) berichten von einem Versuch mit Epidermischalon, bei dem die antimitotische Wirkung von 1, 2, 4 und 8 mg Extrakt getestet wurde. An Ohrepidermis ließ sich mit 4 und 8 mg Extrakt die Mitosehemmung gegenüber 2 mg nicht mehr steigern, an Zungenepithelien hemmten 4 und 8 mg Chalon sogar wesentlich weniger die Mitose als 2 mg. Da Wörz (39) ähnliche Beobachtungen für unseren teilweise gereinigten Extrakt machte, schienen zum Zeitpunkt der Behandlung 2 bzw. 1 mg des Extraktes in 2-tägigen Abständen angemessen. Es ist zu berücksichtigen, daß die wirksame Menge des Extraktes vom jeweiligen Anreicherungsverfahren, durch das der Extrakt gewonnen wurde, bestimmt wird.
Auch die Applikationsart hat einen wesentlichen Einfluß auf die Wirksamkeit. Obwohl Garcia-Giralt et al. (12) bei intraperitonealer Gabe ihrer Extraktlösungen gute Ergebnisse erzielten, schien es doch günstiger, den Extrakt intravenös zu applizieren, zumal bei einem eigenen Versuch mit intraperitonealer Extraktinjektion keine Hemmung von Thyumszellen nachzuweisen war. Mit der intravenösen Gabe konnte ein sofortiger Abbau in der Leber und eine unvollständige Resorption ausgeschlossen werden.
Bei der relativ geringen Verlängerung der Überlebenszeit von nur 1,2 Tagen (Abb. 4), muß retrospektiv in Erwägung gezogen werden, ob mit einer höheren Dosis eine größere Differenz der Überlebenszeit zwischen den beiden Gruppen erreicht worden wäre. Dem stehen jedoch die Beobachtungen von Wörz (39) und Laurence et al. (20) gegenüber. Es ist weiter zu bedenken, daß bei

einer höheren Dosis auch die Nebenwirkungen deutlicher ausgeprägt werden, welche durch eventuell enthaltene Pyrogene hervorgerufen werden (28).
Der Absterbemodus (Abb. 3) der extraktbehandelten Tiere zeigt eine auffällige Besonderheit. Nachdem zunächst nur wenige extraktbehandelte Tiere verstarben, und man in der ersten Hälfte des Experiments einen Überlebenszeit-verlängernden Effekt des Extrakts annehmen konnte, verendeten am 24. Tag p.t. relativ überraschend 8 Tiere. Das sind 57% innerhalb 24 Stunden. Bei den Kontrolltieren konnte hingegen eine solche Häufung nicht festgestellt werden.
Am 25. Tag p.t. lebten zum ersten Mal in der extraktbehandelten Gruppe weniger Tiere als in der Kontrollgruppe. Der Vorsprung der extraktbehandelten Tiere nahm so von 1,5 in der 1. Hälfte auf 1,2 Tage durchschnittliche Überlebenszeit am Ende des Versuchs ab (Abbildung 4).
Mit einer durchschnittlichen Überlebenszeit der kochsalzbehandelten Tiere von 23,7 Tagen (Tabelle 1) wurde die von Skipper et al. (33) angegebene Frist für "first-passage-AK-Lymphome" mit 10^6 übertragenen Zellen nur um knapp 4 Tage überschritten. Diese Abweichung kann durch den unterschiedlichen Tierstamm bedingt sein, dessen Lymphomzellen einen anderen Proliferationsrhythmus besitzen.
Ein Tier (K14) erkrankte jedoch nicht bzw. konnte die Krankheit überwinden. Nachdem zwischen dem 10. und 16. Tag p.t. bei 4 Untersuchungen 3 mal die oberflächlichen inguinalen Lymphknoten sicher getastet wurden, verschwanden diese in den folgenden Tagen. Ab dem 26. Tag p.t. konnte nichts mehr getastet werden. Auch die übrigen Krankheitszeichen fielen nur im genannten Zeit-

raum auf. Das Tier überlebte die Zelltransplantation mehr als 6 Monate. Damit ist die von Bruce et al. (3) angegebene Zeit, innerhalb der die Lymphome seiner Zellreihe mit großer Sicherheit zum Tod des Tieres führten, weit überschritten.
Es muß angenommen werden, daß diesem Tier keine malignen Zellen übertragen wurden, oder daß das Abwehrsystem des Tieres die übertragenen Lymphomzellen eliminieren konnte. Für die letzte Annahme spricht, daß die Lymphknoten vorübergehend vergrößert waren. Damit sind die Ergebnisse dieses Tieres nicht mit denen der übrigen Tiere vergleichbar, weshalb sie bei der Auswertung der Untersuchung nicht berücksichtigt werden konnten.

Daß die übrigen Tiere in einem fortgeschrittenen Stadium der Leukämie verstarben, kann anhand der Sektionsgewichte von Thymus und Milz gezeigt werden. Der Thymus der kochsalzbehandelten Tiere wog im Mittel 177,1 mg, die der Milz 274,2 mg. Damit liegen beide Durchschnittsgewichte ungefähr 3,5 mal höher als die Normalgewichte 6-8 Wochen alter AKR-Mäuse (29, 33). Nur bei 1 Tier (K13) lag das Thymusgewicht wesentlich unter dem höchsten Wert (100 mg) gesunder Tiere, wobei bei diesem Tier das Milzgewicht überdurchschnittlich vergrößert war.
Bei der Übertragung von "Colony-forming-cells" auf gesunde Tiere nahmen Lin et al. für alle jene Tiere eine Leukämie an, die innerhalb 4 Wochen starben, oder deren Milzgewicht am Ende der Periode höher als 135 mg war (33). Im vorliegenden Versuch wird diese Grenze von 135 mg nur von 1 Tier (K12) unterschritten, wobei das Gewicht trotzdem deutlich über dem mittleren Normalgewicht von 78 mg liegt. Damit kann angenommen werden, daß alle ausgewerteten Tiere an einer fortgeschrittenen Leukämie verstarben.

Es hat sich gezeigt, daß die lymphatischen Organe durch den Extrakt in ihrem Wachstum nicht gehemmt werden konnten. Die Thymusgewichte der extraktbehandelten Tiere lagen um 17,0 % über den Organgewichten der Kontrolltiere, die der Milz um 18,2 %. Die Gewichte der verschiedenen Lymphknotengruppen waren in unterschiedlichem Ausmaß erhöht. Im Durchschnitt lagen die Lymphknotengewichte der extraktbehandelten Tiere um 38,0 % über den Lymphknotengewichten der Kontrollgruppe.
Vergleicht man die Gewichte der sezierten oberflächlichen inguinalen Lymphknoten mit den Tastbefunden, so stellt man fest, daß die Gewichte dieser Organe im Mittel bei den extraktbehandelten Tieren um ca. 54 % höher liegen als bei den kochsalzbehandelten, während die kurz vor dem Tod festgestellten Tastbefunde nur um ca. 12 % höher eingestuft wurden. Diese Diskrepanz dürfte sich daraus ergeben, daß die Skalierung der Tastbefunde vor allem im oberen Bereich ziemlich grob war.
Die Darstellung der Beziehung zwischen den einzelnen Gewichten und den einzelnen Tastbefunden (Abb. 10) zeigt eine gute Korrelation der objektiven mit den subjektiven Befunden. Es kann daraus geschlossen werden, daß es möglich ist, an Hand der getasteten Lymphknotengröße den Krankheitsverlauf der Tiere bzw. der einzelnen Gruppen abzuschätzen.
Als einziges seziertes Organ wog die Leber im Gruppendurchschnitt bei den extraktbehandelten Tieren weniger als bei den kochsalzbehandelten Tieren. Die Bedeutung dieser Ergebnisse wäre durch histologische Untersuchungen zu entscheiden, die den Rahmen dieser Arbeit überschreiten würden.

Die Verlaufsbeobachtungen wurden durchgeführt, um auf Grund der von Jung (19) angegebenen Krankheitszeichen den Krankheitsverlauf beurteilen zu können. Bei der Auswertung der Kurven ist darauf zu achten, daß ab dem 18. Tag post transplantationem einzelne Tiere abstarben, die dann nicht mehr beurteilt werden konnten. Starb beispielsweise ein sehr krankes Tier, so fiel die durchschnittliche Bewertung der Gruppe an den folgenden Tagen im Vergleich zum Vortag besser aus, selbst wenn sich der Zustand der überlebten Tiere nicht verändert hat. Diese Tatsache wirkte sich vor allem dann auf den Kurvenverlauf aus, wenn in kurzer Zeit sehr viele Tiere verstarben.
Vom 24. bis 26. Tag p.t. zeigte sich bei fast allen Parametern eine Veränderung, die eine Besserung des Allgemeinzustandes der Tiere vortäuscht. Tatsächlich verstarben um den 24. Tag p.t. von der kochsalzbehandelten Gruppe 3 und von der extraktbehandelten Gruppe 9 Tiere, sodaß in den folgenden Tagen je Gruppe nur noch 3 oder weniger Mäuse beurteilt werden konnten. Besonders bei den Lebendgewichten ist es verständlich, daß die Gewichte dieser verbliebenen Tiere nicht für die Gewichtsentwicklung der Gruppe repräsentativ sind, denn die Endgewichte der einzelnen Tiere sind von den Ausgangsgewichten abhängig. Es ist deshalb sinnvoll, die Ergebnisse nur bis zum 24. Tag p.t. auszuwerten (Abbildung 6).
Die Gewichtsunterschiede der beiden Gruppen sind auf dem 5 %-Niveau an keinem Tag statistisch signifikant. Auf dem 10%-Niveau ist nur am 16. Tag p.t. ein statistisch signifikanter Unterschied feststellbar.
Ein Vergleich der Endgewichte mit den Ausgangsgewichten (Abbildung 7) zeigt, daß bei nahezu gleichen Ausgangsgewichten der beiden Gruppen das zuletzt festgestellte Gewicht der extraktbehandelten Tiere mit 19,0 g

um 1,4 g unter dem der kochsalzbehandelten Tiere liegt. Berücksichtigt man jedoch, daß die sehr früh verstorbenen Tiere K9-K12 mit ihrem Gewicht alle über dem durchschnittlichen Endgewicht ihrer Gruppe lagen, so ergibt sich nur noch ein Unterschied von 0,4 g zwischen beiden Kollektiven. Diese Unterschiede sind nicht signifikant.
Innerhalb der Gruppen fiel das Gewicht bei den kochsalzbehandelten Tieren um 1,4 g ab, gegenüber 2,7 g bei den extraktbehandelten (Abbildung7). Diese Unterschiede sind statistisch signifikant, und zwar bei den kochsalzbehandelten Tieren auf dem 10%-Niveau und bei den extraktbehandelten auf dem 1%-Niveau.
Als Ergebnis der Beobachtungen aller Parameter, die auf den Allgemeinzustand der Tiere schließen lassen, ist festzustellen, daß die extraktbehandelten Tiere im Gruppendurchschnitt an den meisten Tagen schlechter bewertet wurden, als die kochsalzbehandelten.
Am 16. und 17. Tag p.t. sind die Unterschiede in der Bewertung des Fells auf dem 5%-Niveau statistisch signifikant. Mit der Berechnung nach Wilcoxon (38) konnte auf dem 5%-Niveau an keinem weiteren Tag für die Beurteilung von Fell, Augen, Gang, Sitzhaltung und Gesamteindruck ein signifikanter Unterschied festgestellt werden.

Untersucht man die einzelnen Parameter auf ihre Aussagekraft hinsichtlich des Krankheitsverlaufs, so fällt auf, daß die Beurteilungen des Fells, des Gangs und der Sitzhaltung relativ gering schwankten. Am sichersten scheint die Beurteilung der Sitzhaltung gelungen zu sein. Bei 269 Beurteilungen lag die Punktzahl nur sechsmal um 1/2 Punkt niedriger als am Vortag und nur dreimal um mehr als 1/2 Punkt. Die Beurteilungen des Fells lagen

nur achtmal, die des Gangs zehnmal um mehr als 1/2 Punkt niedriger als am Vortag. Diese Ergebnisse zeigen, daß der Krankheitszustand relativ sicher durch das Aussehen des Fells, die Sitzhaltung und das Bewegungsbild beurteilt wurde. Die Beurteilung der Augen ist dagegen wesentlich schwieriger, da die Weite des Lidspaltes, und damit auch der Krankheitsausdruck, vom Wachzustand des Tieres abhängig ist. Trotzdem läßt sich auch eine Beziehung zwischen Schwere des Krankheitsbildes und den Veränderungen der Augen bestätigen. Maximal krankhaft veränderte Augen, wie völliges Verkleben der Lidspalten, konnte jedoch nur selten, und bei keinem Tier über längere Zeit, beobachtet werden. 4 Tiere starben sogar, nachdem nur ein zweifelhafter Befund dokumentiert worden war. Die Beurteilung des Gesamteindrucks zeigt eine enge Korrelation zu der Summe der Einzelparameter, weshalb auf die graphische Darstellung der Einzelparameter verzichtet wurde.
Etwas überraschend war die Beobachtung von Lähmungserscheinungen bei insgesamt 7 Tieren (Tabelle 8). Diese traten zwar vorwiegend bei den extraktbehandelten Tieren auf, dennoch scheint die Ursache nicht in dem Extrakt zu liegen, da auch eine kochsalzbehandelte Maus erlahmte. Als Ursache für die Lähmungen wäre eine Infektion der Tiere mit neurotropen Viren denkbar. Um eine infektiöse Genese zu sichern, hätten jedoch spezielle Untersuchungen durchgeführt werden müssen, was im Rahmen dieser Arbeit nicht möglich war.

Am Schluß der Diskussion wäre noch zu überlegen, weshalb die Überlebenszeit der Tiere durch die Behandlung mit dem chalonartigen Kalbsmilzextrakt nicht deutlicher verlängert werden konnte:

Auffällig war das relativ plötzliche Absterben von acht extrakbehandelten Tieren innerhalb eines Tages. Der Grund hierfür könnte in einer Immunreaktion des Organismus vom Typ der Serumkrankheit liegen. Bekanntlich folgt auf eine einmalige Injektion eines Fremdantigens eine Latenz- bzw. Sensibilisierungsperiode von 7-12 Tagen. Bei erneuter Antigenapplikation kommt es nach dieser Zeit zu generalisierter Lymphadenitis und zu einer Vergrößerung der Milz.
Für die Serumkrankheit als Ursache des plötzlichen Absterbens mehrerer Tiere innerhalb kurzer Zeit spricht die Zeit, die vergangen ist, zwischen erster Injektion des Extrakts und dem Tod der Tiere. Die Tiere verstarben 11-12 Tage nach Behandlungsbeginn. Diese Zeit entspräche genau der Sensibilisierungsperiode. Mit der Annahme, daß eine solche Immunreaktion durch den Extrakt ausgelöst wurde, könnte auch das höhere Gewicht der Lymphknoten und der Milz bei den extraktbehandelten Tieren erklärt werden.
Ein weiterer Grund für den plötzlichen Tod so vieler Tiere könnte eine pyrogene Reaktion sein. In einer Arbeit über die Behandlung myeloischer Leukämien bei 7 Patienten mit einem Granulozytenchalon berichten Rytömaa et al. (28) darüber, daß die Patienten manchmal auf die Injektionen des ebenfalls nur teilweise gereinigten Materials mit sehr heftigem Fieber reagierten, das von Erbrechen und Atembeschwerden begleitet wurde. Diesen Ergebnissen beim Menschen könnte die Beobachtung entsprechen, daß die extraktbehandelten Tiere einen schlechteren Allgemeinzustand zeigten als die Vergleichstiere.

Untersuchungen von Ganser (11) über die Wirkung des in dieser Arbeit verwendeten Extraktes auf das Differentialblutbild zeigten 1 Tag nach Applikation des Stoffes eine relative Vermehrung von Granulozyten und Monozyten, die jedoch nicht signifikant war. Da beide Zelltypen phagozytieren, ist es möglich, daß durch sie ein beträchtlicher Teil der injizierten Fremdstoffe (Toxine, Staubpartikel) zu Beginn der Erkrankung abgefangen wurde (Bakterien dürften nicht enthalten sein, da der Extrakt direkt vor der Applikation sterilfiltriert wurde). Mit dem Fortschreiten der Krankheit kam es jedoch zum Erliegen der Abwehrsysteme, sodaß der Organismus mit den gesamten Toxinen überflutet wurde. Damit dürften die Tiere verstorben sein, bevor die lymphoiden Zellen einen kritischen Wert, der mit dem Leben nicht mehr vereinbar ist (3), erreicht hatten.
Mit dieser Hypothese wäre nicht nur das plötzliche Absterben mehrerer Tiere erklärt, sondern auch der stärkere Gewichtsverlust und der schlechtere Allgemeinzustand der extraktbehandelten Tiere während der Behandlungszeit. Auch die stärkere Vergrößerung der Lymphknoten und Milz extraktbehandelter Tiere könnte gedeutet werden: Durch das Auseinandersetzen mit dem Fremdstoff wurde eine Organvergrößerung bewirkt, die eine Hemmung der Lymphozytenproliferation durch das im Extrakt enthaltene Chalon überdeckt haben könnte.
Da der Thymus fast ausschließlich aus lymphatischem Gewebe und Bindegewebe besteht, hätte die Organvergrösserung durch das maligne Zellwachstum bei den extraktbehandelten Tieren geringer sein müssen als bei den Kontrolltieren. Die tatsächlich aufgetretene Vergrösserung des Thymus gegenüber den Kontrolltieren wäre durch eine immunologische Auseinandersetzung mit dem Extrakt zu erklären.

Es stellt sich die Frage, ob im Laufe der Behandlung eventuell Stoffe im Tierkörper gebildet wurden, welche die Chalone in ihrer Wirksamkeit beeinflußten (Enzyminduktion) (1,30), sodaß eine Verschiebung des Gleichgewichts zugunsten wachstumsfördernder Substanzen im Extrakt stattgefunden hat (15, 16, 26).
Um festzustellen, ob die Tiere auf den Extrakt mit einer Serumkrankheit oder mit unspezifischen Abwehrmechanismen reagierten, müßten histologische und serologische Untersuchungen durchgeführt werden, die im Rahmen dieser Arbeit nicht durchzuführen waren.

Es ist weiter zu bedenken, daß außer der Leber zwar alle Organe der extraktbehandelten Tiere stärker vergrößert waren als bei den kochsalzbehandelten, daß von 5 Lymphknotengruppen aber nur 4 auf dem 10%-Niveau signifikant vergrößert sind. Addiert man die Lymphknotengewichte jedes Tieres, ergibt sich kein signifikanter Unterschied der beiden Versuchsgruppen. Bei Thymus und Milz ist die Irrtumswahrscheinlichkeit größer als 10%. Auch die Unterschiede bei den Verlaufsbeobachtungen sind nur an wenigen Tagen signifikant.
Obwohl es nicht möglich war, durch wiederholte Injektionen des chalonartigen Kalbsmilzextrakts signifikante Unterschiede von Überlebenszeit, Organwachstum und Allgemeinveränderungen gegenüber den Kontrolltieren zu erzielen, zeigen die Ergebnisse doch Tendenzen, die es wert sind, diskutiert zu werden.

V. Z U S A M M E N F A S S U N G

Die Wirkung eines teilweise gereinigten Kalbsmilzextraktes mit dem Charakter eines Lymphozytenchalons auf den Verlauf einer leukämischen Form von "first-passage-AK-Lymphomen" bei 14 Mäusen wurde untersucht. Als Kontrollgruppe wurde 13 Tieren mit derselben Vorbehandlung physiologische Kochsalzlösung appliziert. Die Ergebnisse zeigen, daß die Überlebenszeit zehn Wochen alter AKR-Mäuse nach Transplantation von Thymuszellen einer Maus mit spontaner AKR-Leukämie durch wiederholte Injektionen eines teilweise gereinigten Kalbsmilzextraktes um 1,2 Tage verlängert werden konnte. Die Sektionsgewichte von Thymus, Milz und Lymphknoten lagen im Durchschnitt bei den extraktbehandelten Tieren um 17,0%, 18,2% und 38% über den Gewichten der kochsalzbehandelten. Nur die Lebergewichte lagen geringfügig niedriger (4,4%). Eine Reduktion der Tumorzellmasse durch den Extrakt ist also nicht ersichtlich. Bei den Verlaufsbeobachtungen der allgemeinen Krankheitszeichen wie Fell, Sitzhaltung, Gangbild, Augen und Gesamteindruck, sowie der Entwicklung der oberflächlichen inguinalen Lymphknoten wurden die extraktbehandelten Tiere im allgemeinen schlechter bewertet als die Vergleichsgruppe.

Nur einige Versuche zeigen signifikante Unterschiede zwischen der extraktbehandelten Gruppe und dem Kontrollkollektiv (Irrtumswahrscheinlichkeit kleiner als 10%). Die Verlängerung der Überlebenszeit der extraktbehandelten Tiere ist mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von mehr als 10% behaftet.

Es muß diskutiert werden, ob zusätzliche Substanzen, wie Pyrogene, Antigene oder Stimulatoren, die in dem nur teilweise gereinigten Extrakt eventuell enthalten waren, die Ergebnisse ungünstig beeinflußt haben.
Die Frage der Wirksamkeit höherer Dosierungen zeigt, daß es notwendig ist, nach weiteren Reinigungsmethoden zu suchen, um den Wirkstoff (Lymphozytenchalon) von störenden Substanzen zu befreien.

L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

1. ATTALLAH, A.M.: Regulation of cell growth. In: Chalones (Houck, J.C., Ed.). Amsterdam-Oxford: North-Holland publishing Company / New York: American Elsevier publishing Company 1976.

2. ATTALLAH, A.M. and HOUCK, J.C.: Lymphocyte chalone. In: Chalones (Houck, J.C., Ed.). Amsterdam-Oxford: North-Holland publishing Company / New York: American Elsevier publishing Company 1976.

3. BRUCE, W.R., VALERIOTE, F.A., and MEEKER, B.E.: Survival of Mice Bearing a Transplanted Syngeneic Lymphoma following Treatment with Cyclophosphamide, 5-Fluorouracil, or 1,3-Bis(2-Chloroethyl)-1-nitrosourea. J. Nat. Cancer Inst. 39, 257-266 (1967).

4. BULLOUGH, W.S.: The control of mitotic activity in adult mammalian tissues. Biol. Rev. 37, 307-342 (1962).

5. BULLOUGH, W.S.: The Use of Tissue Extracts in the Treatment of Cancer. In: Fortschritte der Krebsforschung (Schmidt, C.G. und Wetter O., Hsg.). Stuttgart, New York: Schattauer 1969.

6. BULLOUGH, W.S. and LAURENCE, E.B.: The control of epidermal mitotic activity in mouse skin. Exp. Cell Res. 21, 394-405 (1960).

7. BULLOUGH, W.S. and LAURENCE, E.B.: The control of epidermal mitotic activity in the mouse. Proc. Roy. Soc. B 151, 517-536 (1960).

8. BULLOUGH, W.S. and LAURENCE E.B.: Stress and adrenaline in relation to the diurnal cycle of epidermal mitotic activity in adult male mice. Proc. Roy. Soc. B 154, 540-556 (1961).

9. BULLOUGH, W.S. and LAURENCE, E.B.: Mitotic control by internal secretion: the role of the chalone-adrenaline-complex. Exp. Cell Res. 33, 176-194 (1964).

10. BULLOUGH, W.S. and LAURENCE, E.B.: Melanocyte Chalone and Mitotic Control in Melanomata. Nature, 220, 137-138 (1968).

11. GANSER, H.: Dissertation - Fachbereich Klinische Medizin der Universität Tübingen. In Vorbereitung.

12. GARCIA-GIRALT, E., DIAZ-RUBIO, E. and RAPPAPORT, H.: Evaluation of the specifity of a lymphoid chalone. Cell Tissue Kinet. 8, 589-592 (1975).

13. GROSS, L.: Viral etiology of mouse leukemia. Henry Ford Hospital International Symposium. The leukemias: Etiology, Pathophysiology, and Treatment, 127-141 (1957).

14. HEIDEMANN, E., JUNG, A. und WILMS, K.: Gewebsspezifische Hemmung der Lymphocytenproliferation durch Milzextrakt (Lymphocytenchalon), Klin. Wschr. 54, 221-226 (1976).

15. HOUCK, J.C., and CHENG, R.F.: Isolation, Purification, and chemical Characterization of serum Mitogen for Diploid Human Fibroblasts. J. Cell. Physol. 81, 257-270 (1973).

16. HOUCK, J.C. and HENNINGS, H.: Chalones Specific Endogenous Mitotic Inhibitors, FEBS Letters 32, 1-8 (1973).

17. HOUCK, J.C., ATTALLAH, A.M., LILLY, I.R.: Immunosuppressive properties of the lymphocyte chalone. Nature 245, 148-150 (1973).

18. IVERSEN, O.H.: The history of chalones. In: Chalones (Houck, J.C., Ed.). Amsterdam-Oxford: North-Holland publishing Company / New York: American Elsevier publishing Company 1976.

19. JUNG, S.: Grundlagen für die Haltung der wichtigsten Versuchstiere, Stuttgart: Fischer 1962.

20. LAURENCE, E.B. and RANDERS HANSEN, E.: An in vivo Study of Epidermal Chalon and Stress Hormones on Mitosis in Tongue Epithelium and Ear Epidermis of the Mouse. Virchows Arch. Abt. B. Zellpath. 9, 271-279 (1971).

21. LAURENCE, E.B., RANDERS HANSEN, E.: Regional Specifity of the Epidermal Chalone Extracted from two Different Body Sites. Virchows Arch. B, Zellpath. 11, 34-42, (1972).

22. MARTZ, E. and STEINBERG, M.S.: The Role of Cell-cell Contact in "Contact" Inhibition of Cell Division: A Review and New Evidence. J. Cell. Physiol. 79, 189-210 (1972).

23. MAURER, H.R.: Chalone: Regulationsstoffe des Organwachstums bei Mensch und Tier. Pharmazie in unserer Zeit, 2, 181-196 (1973).

24. Mc ENDY, D.P., BOON, M.C. and FURTH, J.: On the role of the thymus, spleen and gonads in the development of leukemia in a high-leukemia stock of mice. Cancer Res. 4, 377-384 (1944).

25. NAKAKUKI, K., SHISA, H. and NISHIZUKA, Y.: Prevention of AKR-leukemia by thymectomy at varying ages. Acta Haeatol. 38, 317-323 (1967).

26. RYTÖMAA, T. and KIVINIEMI, K.: Control of Granulocyte Proliferation. I. Chalone and Antichalone, specific humoral regulators. Cell Tissue Kinet. 1, 329-340 (1968).

27. RYTÖMAA, T. and KIVINIEMI, K.: Regression of Generalized Leukemia in Rat Induced by the Granulocytic Chalone. Europ. J. Cancer 6, 401-410, (1970).

28. RYTÖMAA, T., VILPO, J.A., LEVANTO, A. and JONES, W.A.: Effect of granulocyte chalone on acute and chronic granulocytic leukemia in man. Report of seven cases. Scand. J. Haematol., Suppl. 27, 5-28 (1976).

29. SCHABEL, Jr., SKIPPER, H.E., TRADER, M.W., LASTER, W.R., Jr., and SIMPSON-HERREN, L.: Spontaneous AK Leukemia (Lymphoma) as a Model System. Cancer Chemother. Rep. 53, 329-344, (1969).

30. SCHNEBLI, H.P.: A Protease-like Activity associated with Malignant Cells. Schweiz. med. Wschr. 102, 1194-1197 (1972).

31. SKIPPER, H.E., SCHABEL, F.M., Jr. and WILCOX, W.S.: Experimental evaluation of potential anticancer agents. XIII. On the criteria and kinetics associated with "curability" of experimental leukemia. Cancer Chemother. Rep. 35, 1-111 (1964).

32. SKIPPER, H.E., SCHABEL, F.M., Jr., TRADER, J.W., and LASTER, W.R., Jr.: Response to therapy of spontaneous, first passage, and long passage lines of AK Leukemia. Cancer Chemother. Rep. 53, 345-366 (1969).

33. SKIPPER, H.E., SCHABEL, F.M., Jr., TRADER, M.W., LASTER, W.R., Jr., SIMPSON-HERREN, L., and LLOYD, H.H.: Basic and therapeutic trial results obtained in the spontaneous AK leukemia (lymphoma) Model - end of 1971. Cancer Chemother. Rep. 56, 273-314 (1972).

34. SWANN, M.M.: The control of cell division: a review. II. Special mechanisms. Cancer Res. 18, 1118 (1958).

35. THORNLEY, A.L. and LAURENCE, E.B.: The present state of biochemical research on chalones. Int. J. Biochem. 6, 313-320 (1975).

36. WEIHE, W.H.: Der Einfluß der Temperatur als Faktor der physikalischen Umwelt auf den Stoffwechsel der Ratte. In: Die Umwelt der Versuchstiere und ihre Standardisierung im biologischen Test". Beiheft zur internationalen Zeitschrift für Vitaminforschung Nr. 9, Bern, Stuttgart: Huber 1964.

37. WILK, W.: Anforderungen an die Haltung von Versuchstieren. In: Grundinformationen über Versuchstierfragen der DFG, Kommission für Versuchstierforschung, Mitteilung I (1971).

38. WINNE, D.: Zur Auswertung von Versuchsergebnissen: Die verteilungsfreien Rangteste von Wilcoxon. Arzneimittelforschung 14, 119 (1964).

39. WÖRZ, F.: Dissertation - Fachbereich Klinische Medizin der Universität Tübingen. In Vorbereitung.

LEBENSLAUF

Am 15.4.1950 wurde ich, Heinrich Rutsch, als Sohn des Ernst Rutsch und der Elsa Rutsch, geborene Hanselmann, in Schwäbisch Hall geboren. Von 1956 bis 1964 besuchte ich die Volksschule in Vellberg, Kreis Schwäbisch Hall. Es folgten ein Jahr landwirtschaftliche Lehre, drei Jahre bankkaufmännische Lehre, Besuch der kaufmännischen Berufsaufbauschule in Schwäbisch Hall für ein Jahr mit Erlangung der Fachschulreife und des Staatlichen Instituts zur Erlangung der Hochschulreife in Stuttgart mit Ablegung des Abiturs am 14. Juni 1972.

Im Wintersemester 1972/1973 begann ich mein Medizinstudium in Tübingen. Die Ärztliche Vorprüfung legte ich im März 1975 ab, den ersten Teil der Ärztlichen Prüfung im März 1976 und den zweiten Teil im März 1978. Mit Abschluß des dritten Teils der Ärztlichen Prüfung am 2.5.1979 beendete ich mein Medizinstudium. Der experimentelle Teil der vorliegenden Untersuchung fiel in die Zeit von April bis Dezember 1976.

Seit Juli 1975 bin ich mit der Lehrerin Lydia Rutsch, geborene Wörz, aus Urach-Hengen verheiratet.